

AKTIVITAS ANTAGONISTIK KAPANG ENDOFIT DUWET (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) TERHADAP *Alternaria porri* PENYEBAB BERCAK UNGU PADA BAWANG MERAH (*Allium ascalonicum* L.) SECARA IN-VITRO

Ristia Rachmatunnisa¹, Isworo Rukmi², Sri Pujiyanto²

¹Program Studi Biologi Departemen Biologi FSM Undip

²Laboratorium Bioteknologi Departemen Biologi FSM Undip

Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro

Semarang 50275 Tlp. (024) 7474754; Fax. (024) 76480690

Email: ristiarachmatunnisa@gmail.com¹

ABSTRACT

Endophytic fungi has been capable in producing secondary metabolites similar to those produced by its host. Secondary metabolites in some parts of duwet tree showed an antifungal activity. The aims of this study were to determine the ability of duwet endophytic fungi in inhibiting *A. porri* fungus, a pathogenic agent for purple blotch disease on onion. The experiment conducted using CRD with eight endophytic fungi isolates as treatment with three replications. Antagonistic activity observed using dual culture method. The endophytic fungal isolates were conventionally identified to genus level. The results showed that endophytic fungi were identified as five isolates of *Penicillium* and one isolate of *Aspergillus*, *Fusarium* and mycelia sterilia. The antagonistic activity of duwet endophytic fungi against *A. porri* were varied between 18.1% - 47.3%. The highest antagonistic activity showed by *Fusarium* JD1 (47,3%).

Keywords: Alternaria porri, purple blotch, onion disease, antagonistic fungi, endophytic fungi.

ABSTRAK

Kapang endofit mampu menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan yang dihasilkan oleh inangnya. Metabolit sekunder yang dihasilkan tanaman duwet diduga memiliki aktivitas antijamur. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan kapang endofit duwet dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen *A. porri*, penyebab bercak ungu pada bawang merah. Rancangan penelitian yang digunakan adalah RAL satu faktor, yaitu 8 isolat kapang endofit duwet dengan 3 ulangan. Pengujian daya antagonisme dilakukan dengan metode *dual culture*. Isolat kapang endofit duwet diidentifikasi secara konvensional sampai tingkat genus, hasil pengamatan menunjukkan bahwa isolat-isolat kapang endofit tersebut berasal dari 1 isolat genus *Aspergillus*, 5 isolat genus *Penicillium*, 1 isolat genus *Fusarium* dan 1 isolat mycelia sterilia. Seluruh isolat kapang endofit duwet menunjukkan daya antagonistik yang bervariasi terhadap *A. porri* sebesar 18,1% - 47,3%. Daya antagonis terbesar ditunjukkan oleh isolat *Fusarium* JD1.

Kata kunci : *Alternaria porri, bercak ungu, penyakit bawang merah, kapang antagonis, kapang endofit.*

PENDAHULUAN

Bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) banyak dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari, diantaranya sebagai bumbu masakan dan obat tradisional (Batubara, 2014). Hal ini menjadikan bawang merah sebagai salah satu komoditas sayuran unggulan yang telah lama diusahakan secara intensif oleh petani. Bawang merah juga memberikan kontribusi cukup tinggi terhadap perkembangan ekonomi. Produksi bawang merah masih mengalami kendala, salah satunya adalah serangan penyakit bercak ungu yang disebabkan oleh infeksi kapang patogen *Alternaria porri*. Penyakit tersebut menyebabkan kerugian yang cukup besar bagi para petani bawang merah, dengan turunnya harga dari Rp. 7.000,- sampai Rp. 10.000,- per kilogram menjadi Rp. 5.000,- per kilogram (Sindonews, 2015).

Salah satu cara mengatasi penyakit bercak ungu yang digunakan saat ini adalah dengan penyemprotan fungisida. Penggunaan fungisida yang terus-menerus dapat menimbulkan dampak buruk bagi kesehatan, merusak keseimbangan ekosistem dan memerlukan biaya yang cukup besar. Pengendalian patogen penyebab penyakit tanaman yang ramah lingkungan perlu dikembangkan untuk mengurangi dampak negatif yang ditimbulkan dari penggunaan fungisida. Salah satu alternatif adalah dengan memanfaatkan metabolit sekunder dari tanaman untuk mengendalikan penyakit tanaman, hal ini membuka kemungkinan penggunaan tanaman sebagai agensia hayati.

Salah satu jenis tanaman yang menghasilkan senyawa metabolit sekunder adalah duwet (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) yang termasuk family Myrtaceae. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tanaman duwet adalah asam malat, asam oksalat, asam galat, asam betulat, tanin, flavonoid dan minyak esensial. Senyawa metabolit sekunder duwet diketahui bersifat bioaktif, yaitu

sebagai antibakteri, antijamur, antivirus dan antiinflamasi (Sah *et al.*, 2011).

Mikroba endofit yang hidup di dalam tanaman mampu menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan yang dihasilkan inangnya. Isolat kapang dari tanaman duwet diduga mempunyai potensi memproduksi senyawa metabolit sekunder yang bersifat sebagai antijamur yang dapat digunakan untuk mengendalikan atau membunuh kapang patogen. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya antagonis kapang endofit duwet terhadap kapang patogen *A. porri* penyebab bercak ungu pada bawang merah secara *in-vitro*.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Isolat

Bahan-bahan yang digunakan adalah 8 isolat kapang endofit duwet (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) yang diisolasi dari bagian akar, cabang dan daun, daun bawang merah yang terinfeksi penyakit bercak ungu, media *Potato Dextrose Agar/PDA*, media *Malt Extract Agar/MEA*, alkohol 70%, minyak imersi, aquades, *lactophenol*, *cotton blue*, *chloramphenicol*.

Pengambilan Sampel Daun Bawang Merah yang Terinfeksi Bercak Ungu

Sampel diambil dari Desa Wanasari, Kabupaten Brebes. Daun bawang merah yang terinfeksi bercak ungu dicabut tanaman, dibersihkan, dan disimpan dalam kantong plastik zipper. Isolasi kapang dilakukan tidak lebih dari 3 setelah pengambilan sampel (Sudhanta & Abadi, 2007; Wiyatiningsih, 2009).

Isolasi Kapang *A. porri*

Isolasi dilakukan secara langsung pada medium MEA, dengan meletakkan potongan berukuran 0,5 cm dari sampel daun bawang merah yang terserang penyakit, setelah sebelumnya dicuci dengan aquades steril. Cawan petri diinkubasi pada suhu kamar selama 3-7

hari. Kapang yang menunjukkan ciri-ciri makroskopis seperti *A. porri* dipindahkan kembali pada medium MEA dan diinkubasi pada suhu kamar selama 3-7 hari (Sudantha & Abadi, 2007; Wiyatiningsih, 2009; Nugroho dkk., 2011).

Pemeliharaan Isolat Kapang Endofit Duwet dan Kapang Patogen

Koloni kapang *A. porri* diinokulasikan ke medium MEA miring, diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu ruang dan disimpan dalam *refrigerator* untuk digunakan sebagai kultur stok (Wulandari dkk., 2014). Isolat kapang endofit duwet dipelihara dengan cara yang sama.

Identifikasi Kapang Endofit Duwet dan Kapang Patogen

Identifikasi isolat kapang dilakukan secara konvensional sampai tingkat genus menurut Crous *et al.*, (2009), Samson *et al.*, (2010) dan Klich, (2002).

Uji Antagonisme Kapang Endofit Duwet terhadap Kapang Patogen *A. porri* dengan Metode *Dual Culture* (Zivkovic *et al.*, 2010)

Isolat kapang endofit dan kapang patogen *A. porri* diinokulasikan pada medium MEA dalam cawan petri secara berhadapan dengan jarak 3 cm. Isolat kapang endofit diinokulasikan 3-4 hari lebih awal dari isolat kapang patogen, karena pertumbuhan kapang endofit yang lebih lambat. Cawan petri diinkubasi pada suhu kamar (28°-30°C) selama 7 hari. Uji antagonisme dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Persentase penghambatan (PGI) kapang antagonis ditentukan dengan rumus:

$$PGI (\%) = \frac{R_k - R_1}{R_k} \times 100\%$$

PGI = *Percentage Growth Inhibition* (%).

R_k = Jarak dari titik inokulasi ke tepi koloni pada kontrol (mm).

R_1 = Jarak pertumbuhan kapang patogen dari titik inokulasi ke tepi koloni yang megarah ke antagonis pada perlakuan uji.

Tabel 1. Kategori persentase penghambatan (*Growth Inhibition Category / GIC*) dari skala 0 sampai 4 (Zivkovic *et al.*, 2010).

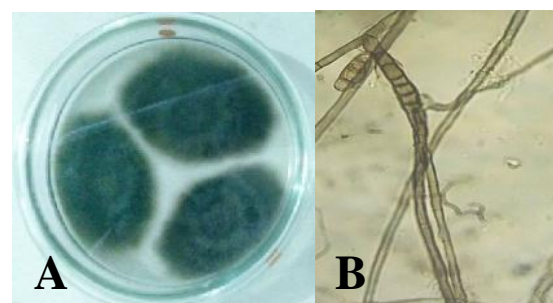
Skala	Hambatan Pertumbuhan
0	Tidak ada hambatan pertumbuhan
1	1 – 25%
2	26 – 50%
3	51 – 75%
4	75 – 100%

Analisis Data

Data persentase penghambatan yang diperoleh, dilakukan uji homogenitas dan normalitas kemudian dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA dengan taraf signifikansi 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil identifikasi isolat kapang patogen dengan pengamatan makroskopis dan mikroskopis pada kultur berumur 7 hari pada media MEA (Crous *et al.*, 2009), menunjukkan bahwa isolat tersebut adalah *A. porri* (Gambar 1 dan Tabel 2).



Gambar 1. Morfologi makroskopis (A) dan mikroskopis (B) isolat kapang *Alternaria porri* dari bawang merah pada media MEA umur 7 hari.

Tabel 2. Identifikasi makroskopis dan mikroskopis *A. porri* pada media MEA umur 7 hari.

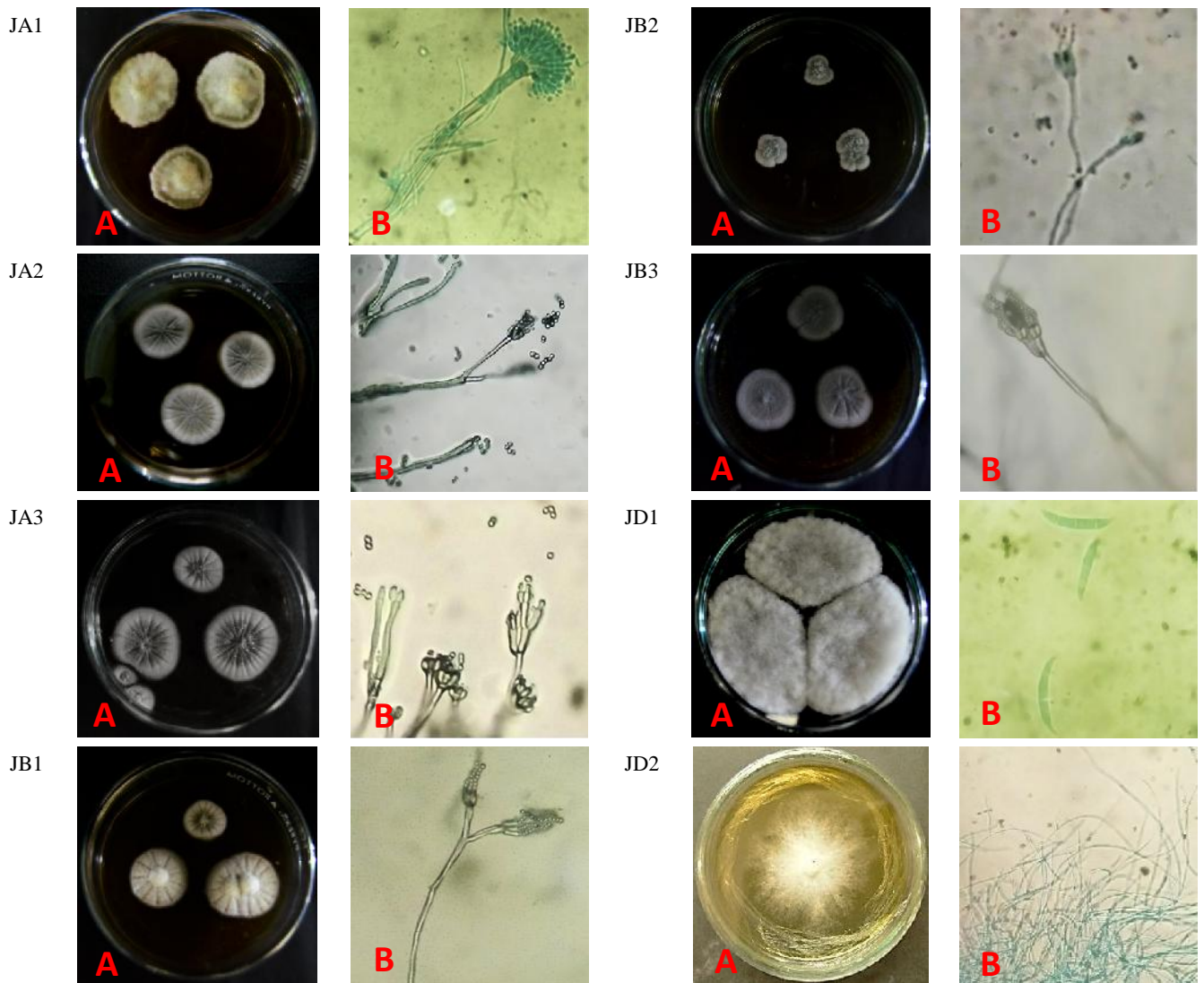
Deskripsi	Hasil Pengamatan	Crous <i>et al.</i> , (2009)
-----------	------------------	------------------------------

Warna Koloni		
-permukaan	hitam keabu-abuan	abu-abu sampai hitam
-reverse	hitam	hitam
-diameter	6 cm	6 cm
Konidiofor		
-warna	coklat	coklat
-ukuran	52	50
-bentuk	sederhana	sederhana lurus
Konidia		
-warna	coklat	coklat
-ukuran	31,2	30 – 35
-bentuk	elips	elips
-septa	3-8	transversal atau longitudinal
	transversal atau longitudinal	

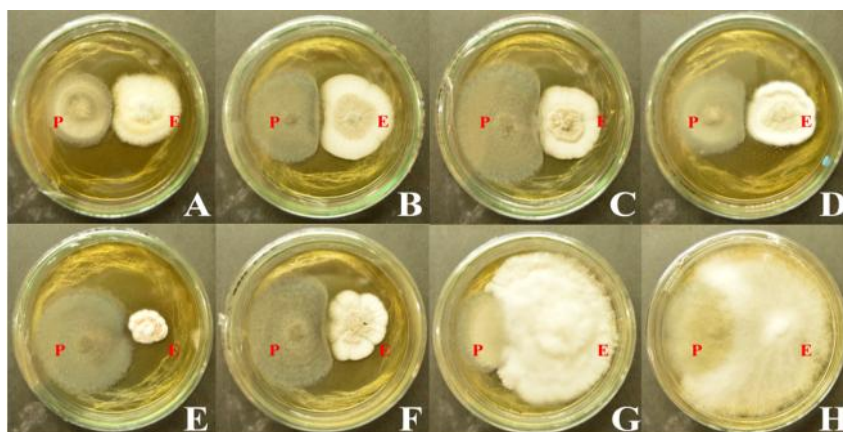
Hasil identifikasi terhadap 8 isolat kapang endofit duwet dari akar, cabang dan daun diperoleh 1 isolat genus *Aspergillus*, 5 isolat genus *Penicillium*, 1 isolat genus *Fusarium* dan 1 isolat mycelia sterilia (Gambar 2). Keempat genus kapang endofit *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* dan mycelia sterilia tersebut, juga ditemukan pada akar, batang, daun dan ranting *Taxus baccata* (Caruso *et al.*, 2000). *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* dan mycelia sterilia yang hidup sebagai endofit juga berhasil diisolasi dari akar dan daun tanaman padi di provinsi Guangdong, Cina Selatan (Tian *et al.*, 2004). Bharathidasan & Panneerselvam (2011), juga menemukan kapang endofit *Aspergillus*, *Penicillium* dan mycelia sterilia pada batang dan daun *Avicennia marina*.

Liu *et al.*, (2010) mengisolasi kapang endofit yang berasal dari beberapa tanaman hijau yang berada di Gunung Zijin, Cina. Hasil isolasi menunjukkan kehadiran kapang *Aspergillus*, *Penicillium*, dan *Fusarium* sebagai genus dominan. Penelitian lain yang dilakukan oleh Maheswari & Rajagopal (2013), kapang *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* berhasil diisolasi dari jaringan daun *Kigelia pinnata* yang berasal dari India, sedangkan mycelia sterilia berasal dari jaringan daun dan jaringan batang *Kigelia pinnata*. Beberapa kapang endofit berhasil pula diisolasi dari tanaman obat *Camptotheca acuminata*, salah satunya adalah kapang *Fusarium*

sebagai genus dominan yang memiliki aktivitas antimikroba (Lin *et al.*, 2007), sedangkan Rubini dkk. (2005) juga berhasil mengisolasi kapang *Fusarium* dari batang tanaman coklat (*Theobroma cacao* L.).



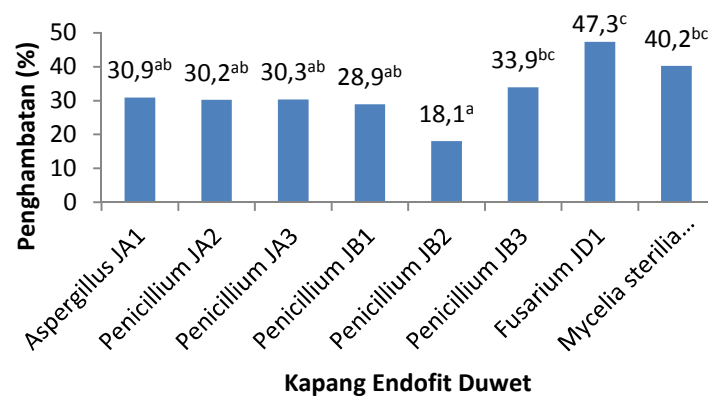
Gambar 2. Koloni makroskopis (A) dan morfologi mikroskopis (B) kapang endofit duwet pada media MEA umur 7 hari.



Gambar 3. Uji antagonistik 8 isolat kapang endofit duwet (E) terhadap *A. porri* (P). (A) *Aspergillus* JA1, (B) *Penicillium* JA2, (C) *Penicillium* JA3, (D) *Penicillium* JB1, (E) *Penicillium* JB2, (F) *Penicillium* JB3, (G) *Fusarium* JD1, (H) myselia sterilia JD2.

Hasil uji daya antagonisme isolat endofit *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* dan mycelia sterilia terhadap *A. porri* terlihat pada Gambar 3. Gambar 4

menunjukkan bahwa semua kapang endofit duwet memiliki daya antagonisme yang bervariasi terhadap kapang patogen *A. porri*, sebesar 18,1% - 47,3%.



Gambar 4. Persentase penghambatan kapang endofit duwet terhadap *A. porri* pada media MEA.

Berdasarkan skala kriteria penghambatan pertumbuhan *A. porri*, kapang *Aspergillus* JA1, *Penicillium* JA2, *Penicillium* JA3, *Penicillium* JB1, *Penicillium* JB3, *Fusarium* JD1 dan mycelia sterilia JD2 termasuk dalam skala 2 dengan penghambatan sebesar 26-50%, sedangkan kapang *Penicillium* JB2 termasuk dalam skala 1 dengan penghambatan sebesar 1-25%. Menurut Zivkovic *et al.*, (2010), kapang antagonis dengan daya penghambatan pada skala 2 cukup mampu untuk menghambat kapang patogen, sedangkan kapang antagonis yang dengan daya penghambatan pada skala 1 memiliki kemampuan penghambatan yang lemah terhadap kapang patogen.

Kapang *Aspergillus* JA1 cukup mampu menghambat pertumbuhan patogen *A. porri*. *Aspergillus* memiliki potensi sebagai agen biokontrol untuk mengendalikan beberapa kapang patogen melalui tiga interaksi yaitu mikroparasitisme yaitu parasitisme langsung pada hifa patogen, kompetisi terhadap ruang dan nutrisi, lisis dan antibiosis (Remadi *et al.*, 2006). Hasil uji kapang antagonis *Aspergillus* JA1

terhadap *A. porri* menunjukkan adanya zona hambatan diantara kedua isolat kapang. Pembentukan zona hambatan berkaitan dengan metabolit sekunder dan senyawa antibiosis yang disekresi oleh kapang endofit (Lelana dkk, 2015).

Kapang *Penicillium* cukup mampu untuk menghambat pertumbuhan patogen *A. porri* karena mampu memproduksi senyawa antifungi. Hasil uji antagonis kapang *Penicillium* terhadap *A. porri* menunjukkan adanya zona hambatan yang terbentuk antara dua isolat kapang tersebut, hal ini menunjukkan bahwa mekanisme penghambatan *Penicillium* terhadap patogen *A. porri* adalah mekanisme antibiosis. Adam (1990) menyatakan bahwa beberapa kapang *Penicillium* mampu menghambat pertumbuhan kapang patogen melalui dua mekanisme penghambatan yaitu kompetisi dan antibiosis.

Fusarium JD1 dan mycelia sterilia JD2 yang berhasil diisolasi dari daun duwet memiliki kemampuan antagonistik paling besar dibandingkan dengan kapang endofit duwet lainnya untuk menghambat

pertumbuhan patogen *A. porri*. Daun merupakan habitat yang sesuai untuk pertumbuhan mikroorganisme antagonistik yang mampu berkompetisi nutrisi dan ruang dengan patogen dan menghambat perkembangan patogen melalui sekresi antibiotik atau toksin (Yadav *et al.*, 2011). Olivain (2006) menyatakan bahwa *Fusarium* memiliki kemampuan untuk mengontrol populasi patogen baik bakteri maupun kapang melalui mekanisme kompetisi ruang dan nutrisi. Hasil uji isolat *Fusarium* JD1 tidak menunjukkan adanya mekanisme antibiosis. Alabouvette *et al.*, (1996) menyatakan pula bahwa, kapang *Fusarium* non patogenik tidak dapat memproduksi metabolit spesifik. Hasil berbeda dinyatakan oleh Kim *et al.*, (2007), yaitu bahwa isolat *Fusarium* sp. dari akar cabai terbukti mampu mengontrol penyakit busuk daun pada tomat yang disebabkan oleh kapang patogen *Phytophthora ultimum*, *Phytophthora infestans* dan *P. capsici*.

KESIMPULAN

Kapang endofit duwet menunjukkan kemampuan antagonis yang bervariasi terhadap patogen *A. porri* menggunakan metode *dual culture*. Kapang *Fusarium* JD1 memiliki kemampuan antagonis paling besar namun berbeda tidak nyata dengan kapang *Penicillium* JB3 dan mycelia sterilis JD2.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, P. B. 1990. The Potential of Mycoparasites for Biological Control of Plant Diseases. *Ann. Rev. Phytopathol* 28: 59-72.
- Alabouvette, C., Lemanceau, P., Steinberg, C. 1996. *Biological Control of Fusarium Wilts: Opportunities for Developing A Commercial Product*. ASP Press, USA.
- Batubara, A. U. 2014. Karakter Morfologi dan Agronomi Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Varietas Lokal Samosir pada Beberapa Dosis Iridiasi Sinar Gamma. *Skripsi*. Fakultas Pertanian USU, Sumatera Utara.
- Bermundo, R.Q., Santiago, N.C. & Rosario, M.M. 2000. Fungal antagonists as sources of natural fungicidal compounds for the control of aflatoxin-forming fungi on corn and peanut. *Proceedings of the 7th International Working Conference on Stored-product Protection*. Pp. 217-220.
- Bharathidasan, R and Pannerrselvam, A. 2011. Isolation and identification of endophytic fungi from *Avicennia marina* in Ramanathapuram District, Karankadu, Tamilnadu, India. *Eur. J. Exp. Biol.* 1(3): 31-36.
- Caruso, M., Colombo, A.L., Fedeli, L., Pavesi, A., Quaroni, S., Saracchi, M & Ventrella, G. 2000. Isolation of endophytic and actinomycetes taxane producers. *An. Microbiol.* 50:3-13.
- Crous, P.W., Verkley, G.J.M., Groenewald, J.Z & Samson R.A. 2009. *Fungal Biodiversity*. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, Netherlands.
- Kim, H.Y., Choi, G.J., Lee, H.B., Lee, S.W., Lim, H.K., Jang, K.S., Son, S.W., Lee, S.O., Cho, K.Y., Sung, N.D & Kim, J.C. 2007. Some fungal endophytes from vegetable crops and their anti-oomycete activities against tomato late blight. *Letters in Appl Microbiol* 44: 332-337.
- Klich, M.A. 2002. Identification of Common *Aspergillus* Species. United States Department of Agriculture, USA.
- Lelana, N.E., Ila, A. & Nina, M. 2015. Uji Antagonis *Aspergillus* sp. dan *Trichoderma* spp. terhadap *Fusarium* sp., Penyebab Penyakit Rebah Kecambah pada Sengon. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman* 1(12): 23-28.
- Lin, X., Lu, C., Yaojian, H., Zhonghui, Z., Wenjin, S & Yemao, S. 2007. Endophytic fungi from a pharmaceutical plant, *Camptotheca acuminata*: isolation, identification and bioactivity. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 23: 1037-1040.

- Liu, C., Liu, T., Fengfeng, Y & Yucheng, G. 2010. Isolating endophytic fungi from evergreen plants and determining their antifungal activities. *Af. J. Microbiol. Res.* 4(21): 2243-2248.
- Maheswari, S & Rajagopal, K. 2013. Biodiversity of endophytic fungi in *Kigelia pinnata* during two different seasons. *Cur. Sci.* 104(4): 515-518.
- Nugroho, B., Dian, A. & Warmanti, M. 2011. Variasi Virulensi Isolat *Fusarium oxysporum* f.sp.*cepae* pada Beberapa Varietas Bawang Merah. *Agrin* 1(15): 8-17.
- Olivain, C., Humbert, C., Jamila N., Jamshid, F., Floriane, L & Claude, A. 2006. Colonization of Tomato Root by Pathogenic and Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Strains Inoculated Together and Separately into the Soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 72(2): 1523-1531.
- Remadi, M.D., Khiareddine, H.J., Ayed, F., Hibar, K., Znaidi, I.E.A & Mahjoub, M.E. 2006. *In-vitro* and *In-vivo* Evaluation of Individually Compost Fungi for Potato *Fusarium* Dry Rot Biocontrol. *J. Biol. Sci.* 6(3): 572-580.
- Rubini, M.R., Silva-Ribeiro, R.T., Alan, W.V.P., Cristina, S.M., Wellington, L.A., Deise, R.S & Joao, L.A. 2005. Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipelis pernicioso*, causal agent of Witches' Broom Disease. *Int. J. Bio. Sci.* 1: 24-33.
- Sah, A. K. & Vinod, K. V. 2011. *Syzygium cumini* : An Overview. *J. Chem. Pharm. Res* 3(3): 108-113.
- Samson, R.A., Jos, H., Ulf, T., Jens, C.F. & Birgitte, A. 2010. *Food and Indoor Fungi*. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, Netherlands.
- Sindonews. 2015. *Tanaman Diserang Jamur Petani di Tawangmangu Merugi*. <http://daerah.sindonews.com/read/1040578/22/tanaman-diserang-jamur-petani-di-tawangmangu-merugi-1441332813>. 1 Pebruari 2016.
- Sudantha, I. M. & Abadi, L. A. 2007. Identifikasi Jamur Endofit dan mekanisme Antagonismenya terhadap Jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* pada Tanaman Vanili. *Agroteksos* 1(17): 23-38.
- Tian, X.L., Cao, L.X., Tan, H.M., Zeng, Q.G., Jia, Y.Y., Han, W.Q & Zhou, S.N. 2004. Study on the communities of endophytic fungi and endophytic actinomycetes from rice and their antipathogenic activities *in vitro*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 20:303-309.
- Wiyatiningsih, S. 2009. *Etiologi Penyakit Moler pada Bawang Merah*. UPN University Press, Surabaya.
- Yadav, S.L., Mishra, A.K., Dongree, P.N. & Rashmi, S. 2011. Assessment of fungitoxicity of phylloplane fungi against *Alternaria brassicae* causing leaf spot of mustard. *J. Agri. Technol.* 7(6): 1823-1831.
- Zivkovic, S., S. Stojanovic., Z. Ivanovic., V. Gavrilovic., Tatjana, P. & Jelica, B. 2010. Screening of Antagonistic Activity of Micoorganism Against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Arch.Biol. Sci., Belgrade* 62(3): 611-623.